

# 控制性降压下失血对大鼠海马 CA1 区细胞凋亡的影响

段彬, 蔡宏伟, 阳文杰

(中南大学湘雅医院麻醉科, 长沙 410008)

[摘要] 目的:观察控制性降压下不同程度失血对大鼠海马 CA1 区细胞凋亡的影响。方法:36 只 SD 大鼠随机分成对照组(C 组)和控制性降压组(H 组),组内按失血量占全身血容量的百分比不同各分为 3 组:C<sub>1</sub>, H<sub>1</sub> 组(10% 组); C<sub>2</sub>, H<sub>2</sub> 组(20% 组); C<sub>3</sub>, H<sub>3</sub> 组(30% 组)。H 组泵入硝普钠复合艾司洛尔控制性降压至平均动脉压 50 ~ 55 mmHg, 稳定 10 min 后维持此时泵速并开始放血, C 组泵注生理盐水, 放血过程同 H 组, 均 60 min 后复压。用免疫组织化学法检测存活 24 h 大鼠海马 CA1 区 bcl-2 和 caspase-3 蛋白表达, TUNEL 法检测凋亡细胞。结果: Bcl-2 和 caspase-3 的平均光密度值 H<sub>3</sub> 组高于 C<sub>3</sub> 组 ( $P < 0.05$ ), TUNEL 检测的凋亡细胞 H<sub>3</sub> 组多于 C<sub>3</sub> 组 ( $P < 0.05$ )。结论:控制性降压下大鼠失血 30% 可诱导海马 CA1 区细胞凋亡的发生。

[关键词] 低血压, 控制性; 出血; 细胞凋亡

DOI:10.3969/j.issn.1672-7347.2010.01.009

## Effect of hemorrhage on cell apoptosis in hippocampal CA1 region of rats under controlled hypotension

DUAN Bin, CAI Hongwei, YANG Wenjie

(Department of Anesthesiology, Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410008, China)

**Abstract:** **Objective** To explore the effect of hemorrhage on cell apoptosis in the hippocampal CA1 region of rats under controlled hypotension (CH). **Methods** A total of 36 Sprague Dawley rats were randomly divided into 2 groups: Group C (with no CH) and Group H (with CH). According to different ratios of blood loss to total blood volume, Group C and Group H were redivided into 6 subgroups (6 in each group): C<sub>1</sub>, H<sub>1</sub> (10%); C<sub>2</sub>, H<sub>2</sub> (20%); C<sub>3</sub>, H<sub>3</sub> (30%). Induced by sodium nitroprusside and esmolol, the mean arterial pressure in Group H was decreased to 50 ~ 55 mm-Hg and kept for 10 minutes, and then blood loss was started, keeping the pump speed. Without CH, the same style of hemorrhage was performed in Group C. The arterial pressure was increased 60 minutes later after the hemorrhage. Expression of bcl-2 and caspase-3 protein was detected by immunohistochemical method, and apoptosis cells were detected by TUNEL staining. **Results** The average optical density of bcl-2 and caspase-3 was higher in Group H<sub>3</sub> than that in Group C<sub>3</sub> ( $P < 0.05$ ). There were more apoptosis cells examined by TUNEL in Group H<sub>3</sub> than in Group C<sub>3</sub> ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** Thirty percent blood loss under controlled hypotension can induce cell apoptosis in hippocampal CA1 region in rats.

**Key words:** controlled hypotension; hemorrhage; apoptosis

收稿日期 (Date of reception) 2000-02-24

作者简介 (Biography) 段彬, 硕士, 医师, 主要从事临床麻醉脑保护的研究。

通信作者 (Corresponding author) 蔡宏伟, E-mail: caihw2005@163.com

控制性降压期间伴发大量失血时有发生,硝普钠尽管能维持良好的脑灌注<sup>[1]</sup>,但失血到一定程度时脑血流量可能不能维持,可能造成脑缺血。以往低血压引起的脑损伤研究多以术时的脑血流量、脑电活动、脑氧合状态、脑能量代谢、脑脊液生化物质等变化来评价<sup>[2-4]</sup>。本研究从细胞凋亡角度,观察硝普钠复合艾司洛尔控制性降压期间不同程度失血后大脑缺血事件的发生,了解控制性降压下大脑对失血的耐受能力。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物及分组

健康清洁级成年雄性SD大鼠36只,体质量260~350 g,随机分为对照组(C组)和控制性降压组(H组),各组内按失血量占全身血容量的百分比不同各分为3组:C<sub>1</sub>,H<sub>1</sub>组(10%组);C<sub>2</sub>,H<sub>2</sub>组(20%组);C<sub>3</sub>,H<sub>3</sub>组(30%组),每组6只。

### 1.2 动物模型的建立

10%水合氯醛腹腔麻醉,保留自主呼吸。右侧股动脉置管,用于直接测压和抽取动脉血气;双侧股静脉置管,左侧H组输入降压药物、C组输入生理盐水,右侧回输液体复苏。白织灯照射维持肛温在36~37.5℃。完成置管后抽取动脉血液(0.25 mL)行血气分析, $p(O_2) < 90$  mmHg者不纳入以下实验。稳定10 min后,C组以2 mL/h速度持续泵注生理盐水,H组泵入0.02%硝普钠和0.2%艾司洛尔混合液降压,降压速度小于10 mmHg/min,调节泵速将平均动脉压(mean arterial pressure, MAP)降至50~55 mmHg并稳定,此后维持此时泵速不变。10 min后各组从股动脉放血,以全身血容量60 mL/kg体质量计算<sup>[5]</sup>(失血量包括动脉血气用血及操作失血),速度控制在10~15 min。观察60 min后C组停止输注生理盐水、H组停止降压,再次抽取动脉血液(0.25 mL)行血气分析并回输6%羟乙基淀粉,MAP回升至50 mmHg以上维持1 h,缝合伤口。

### 1.3 24 h后行脑组织取材及处理

10%水合氯醛腹腔麻醉,常规胸腹联合切口,灌注针从心尖直入主动脉根部,依次用生理盐水和4%多聚甲醛PBS溶液(4℃)灌注固定,取出脑

组织常规脱水石蜡包埋。于视交叉后1 mm及4 mm间冠状切开,取中间块切片,片厚4 μm。

### 1.4 苏木素伊红(HE)染色光镜下观察海马CA1区细胞形态

海马组织石蜡切片烤片后常规用二甲苯脱蜡,各级乙醇至水洗,苏木素染色5 min,自来水稍洗,1%盐酸酒精分化20 s后自来水冲洗,继用1%稀氨水反蓝30 s,蒸馏水冲洗15 min,伊红液染色3 min,自来水冲洗1 min,后再常规乙醇脱水,二甲苯透明,中性树胶封片,光镜下观察结果:细胞核深蓝色,胞浆等呈深浅不等的红色。

### 1.5 免疫组织化学法分析 bcl-2 和 caspase-3 蛋白的表达

海马组织石蜡切片常规脱蜡至水后,先用30% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>蒸馏水稀释10倍后温孵育5~10 min,以灭活内源性酶,蒸馏水冲洗2 min×3次;浸入0.01 mol/L枸橼酸盐缓冲液微波炉加热至沸腾后断电,间隔5 min后重复2次,待冷却后PBS洗涤5 min×2次;5%牛血清白蛋白(bovine serum albumin)封闭液覆盖(室温),20 min后甩去多余液体,不洗;滴加 bcl-2 一抗(1:100)(Santa Cruz公司)或 caspase-3 一抗(1:100)(Cell Signaling公司),4℃孵育过夜,用PBS洗涤2 min×3次,阴性对照用PBS代替一抗;滴加生物素化山羊抗小鼠IgG,37℃孵育15 min,PBS洗涤2 min×3次;滴加链霉亲和素-生物素-过氧化物酶复合物(strept avidin-biotin complex, SABC)试剂,37℃孵育20 min,PBS洗涤5 min×4次;新鲜配置的二氨基联苯胺(3,3'-diaminobenzidine, DAB)室温显色,镜下控制反应时间,蒸馏水冲洗,苏木素复染,脱水,透明,封片,光镜观察。阳性产物采用MIAS医用图像分析管理系统测定的平均光密度值表示。每例标本选择两张切片,每张切片随机检测不重复的4个视野,取均值。

### 1.6 细胞凋亡检测

海马组织石蜡切片常规脱蜡至水后,用蛋白酶K溶液室温孵育20 min,PBS洗涤5 min×2次,0.3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>甲醛溶液室温孵育30 min,阻断内源性过氧化物酶,通透细胞,然后用PBS洗涤5 min;PBS洗涤2次,拭干样本周围的水,滴加TUNEL反应液(北京中山生物技术有限公司)(阴性对照用阴性反应液代替),加盖盖玻片,于湿盒

中 37 °C 孵育 60 min; PBS 冲洗 5 min × 3 次, 拭干样本周围的水, 加入转化剂-POD, 加盖盖玻片, 于湿盒中 37 °C 孵育 30 min, PBS 冲洗 5 min × 3 次; 加入 DAB 底物溶液, 室温孵育 20 min, PBS 冲洗 5 min × 3 次, 苏木素轻度复染后封片。光镜下随机观察 5 个不重叠的视野, 计数海马 CA1 区 TUNEL 阳性细胞数和细胞总数, 计算凋亡指数 (apoptosis index, AI), AI = TUNEL 阳性细胞数/细胞总数 × 100%。

### 1.7 统计学处理

计量资料正态分布数据用  $\bar{x} \pm s$  表示, 非正态分布数据用 M (QR) 表示。符合正态和方差齐性条件者组内比较用单因素方差分析, 两两比较用 SNK-*q* 检验, 组间比较采用两独立样本 *t* 检验, 不符和条件时组内比较用 Kruskal-Wallis *H* 检验, 组间采用 Wilcoxon 秩和检验。采用 SPSS13.0 统计软件分析, *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

## 2 结 果

### 2.1 MAP 变化

各组大鼠建立监测后基础 MAP 值各组间无统计学差异 (*P* > 0.05); C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub>, C<sub>3</sub>, H<sub>1</sub>, H<sub>2</sub>, H<sub>3</sub> 组 MAP 值 (mmHg) [M (QR) 表示] 分别为 77 (39 ~ 98), 70 (44 ~ 86), 36 (32 ~ 72), 46 (39 ~ 55), 43 (33 ~ 49), 33 (28 ~ 35) mmHg, 其中 C<sub>3</sub> 组较 C<sub>1</sub> 组、C<sub>2</sub> 组低 (*P* < 0.05), H<sub>3</sub> 组较 H<sub>1</sub> 组、H<sub>2</sub> 组低 (*P* < 0.05); H<sub>1</sub> 组与 C<sub>1</sub> 组比较、H<sub>2</sub> 组与 C<sub>2</sub> 组比较、H<sub>3</sub> 组与 C<sub>3</sub> 组比较, 前者较后者低 (*P* < 0.05)。

### 2.2 动脉血血气分析

各组大鼠麻醉后的基础血气各组间无统计学差异, 第 2 次动脉血血气中, Hct 值 H<sub>3</sub> 组与 H<sub>1</sub> 组比较差异有统计学意义 (*P* < 0.05); BE 值 C<sub>3</sub> 与 C<sub>1</sub> 组、C<sub>2</sub> 组比较差异有统计学意义 (*P* < 0.05), H<sub>3</sub> 组较 C<sub>3</sub> 组、H<sub>1</sub> 组、H<sub>2</sub> 组比较差异有统计学意义 (*P* < 0.05, 表 1)。

表 1 6 亚组第 2 次动脉血气 ( $\bar{x} \pm s$ )  
Tab. 1 Second arterial blood gas from 6 subgroups ( $\bar{x} \pm s$ )

项目	C 组			H 组		
	C <sub>1</sub> 组	C <sub>2</sub> 组	C <sub>3</sub> 组	H <sub>1</sub> 组	H <sub>2</sub> 组	H <sub>3</sub> 组
pH	7.33 ± 0.01	7.31 ± 0.03	7.28 ± 0.08	7.34 ± 0.02	7.32 ± 0.01	7.28 ± 0.06
p(CO <sub>2</sub> )/mmHg	41.9 ± 3.6	44.7 ± 4.5	41.0 ± 3.6	47.1 ± 2.8	44.4 ± 7.0	44.5 ± 4.4
SaO <sub>2</sub> /%	93.7 ± 2.4	96.0 ± 2.4	94.7 ± 2.1	95.9 ± 0.8	95.8 ± 2.4	93.4 ± 2.6
p(O <sub>2</sub> )/mmHg	98.5 ± 2.7	101.1 ± 4.2	95.0 ± 4.2	98.4 ± 4.7	95.3 ± 3.8	99.2 ± 5.6
Hct	0.38 ± 0.04	0.36 ± 0.04	0.33 ± 0.04	0.37 ± 0.02	0.34 ± 0.03	0.31 ± 0.03 <sup>▲</sup>
Hb/(g/dL)	12.3 ± 1.4	11.5 ± 0.7	11.0 ± 1.0	11.8 ± 0.6	11.1 ± 1.2	10.3 ± 0.5
BE	-0.7 ± 1.5	-0.5 ± 1.3	-5.0 ± 3.2 <sup>*△</sup>	-0.6 ± 1.0	-4.1 ± 1.6	-9.9 ± 1.8 <sup>▲#☆</sup>
Na <sup>+</sup> /(mmol/L)	140.5 ± 4.0	137.8 ± 1.2	139.4 ± 2.3	139.2 ± 1.9	138.6 ± 2.1	138.0 ± 2.3

SaO<sub>2</sub>: 饱和度; BE: 碱剩余; Hct: 红细胞比。与 C<sub>1</sub> 组比较, \* *P* < 0.05; 与 C<sub>2</sub> 组比较, △ *P* < 0.05; 与 H<sub>1</sub> 组比较, ▲ *P* < 0.05; 与 H<sub>2</sub> 组比较, # *P* < 0.05; 与 C<sub>3</sub> 组比较, ☆ *P* < 0.05。

### 2.3 生存率

H<sub>3</sub> 组死亡 1 只, 于术后 12 h 内死亡, 尸解无异常发现, 其余组均存活。

### 2.4 HE 染色光镜下观察海马 CA1 区细胞形态

H<sub>3</sub> 组存活者海马 CA1 区不同程度细胞数目减少, 部分细胞外形皱缩不规则, 与周围间隙不清楚, 间质水肿, 核固缩深染。其余组大鼠海马 CA1 区神经细胞形态规整, 排列整齐, 胞核大而圆, 核仁位于胞核中间清晰可见, 细胞周围间隙清楚 (图 1)。

### 2.5 免疫组织化学方法分析 bcl-2 和 caspase-3 蛋白表达

Bcl-2 蛋白表达阳性为胞浆成均匀棕黄色。各组均有阳性表达, 以 H<sub>3</sub> 组染色最明显, 与 C<sub>3</sub> 组、H<sub>1</sub> 组、H<sub>2</sub> 组比较差异有统计学意义 (*P* < 0.05) (表 2, 图 2); caspase-3 蛋白表达阳性为胞浆染成棕黄色, C 组和 H<sub>1</sub> 组、H<sub>2</sub> 组均有少量阳性表达, H<sub>3</sub> 组阳性细胞增多, 较 H<sub>1</sub> 组、H<sub>2</sub> 组比较差异有统计学意义 (*P* < 0.05), 与 C<sub>3</sub> 组比较差异有统计学意义 (*P* < 0.01) (表 2, 图 3)。

表 2 6 亚组 bcl-2 和 caspase-3 平均光密度值 [M(QR)]

Tab. 2 Mean optical density of bcl-2 and caspase-3 from 6 subgroups [M(QR)]

项目	C 组			H 组		
	C <sub>1</sub> 组	C <sub>2</sub> 组	C <sub>3</sub> 组	H <sub>1</sub> 组	H <sub>2</sub> 组	H <sub>3</sub> 组
Bcl-2	0.28(0.11~0.29)	0.21(0.15~0.34)	0.20(0.17~0.24)	0.22(0.11~0.42)	0.20(0.15~0.45)	0.40(0.34~1.04)* <sup>△#</sup>
Caspase-3	0.19(0.13~0.43)	0.26(0.12~0.43)	0.21(0.16~0.33)	0.21(0.15~0.38)	0.22(0.15~0.78)	0.33(0.25~0.78)* <sup>△##</sup>

与 H<sub>1</sub> 组比较, \*  $P < 0.05$ ; 与 H<sub>2</sub> 组比较,  $\Delta P < 0.05$ ; 与 C<sub>3</sub> 组比较, #  $P < 0.05$ , ##  $P < 0.01$ 。

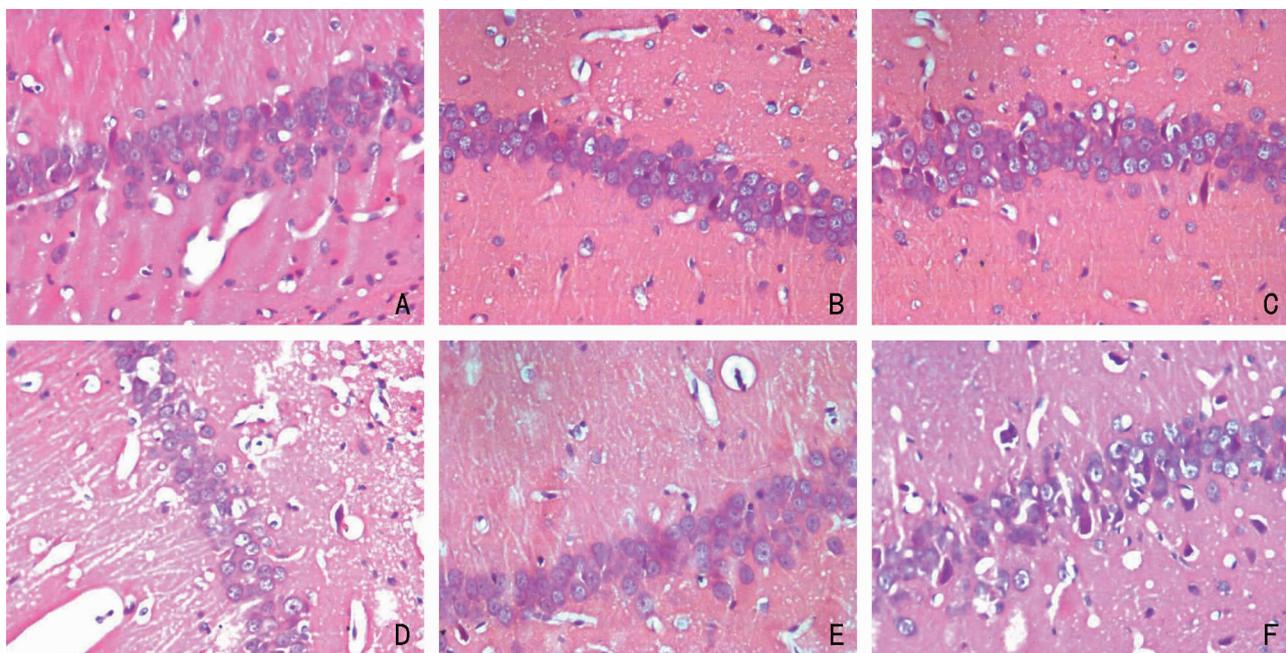


图 1 HE 染色光镜下海马 CA1 区细胞形态。A: C<sub>1</sub> 组; B: C<sub>2</sub> 组; C: C<sub>3</sub> 组; D: H<sub>1</sub> 组; E: H<sub>2</sub> 组; F: H<sub>3</sub> 组。

Fig. 1 Morphology of hippocampal CA1 neurons by HE staining. A: Group C<sub>1</sub>; B: Group C<sub>2</sub>; C: Group C<sub>3</sub>; D: Group H<sub>1</sub>; E: Group H<sub>2</sub>; F: Group H<sub>3</sub>.

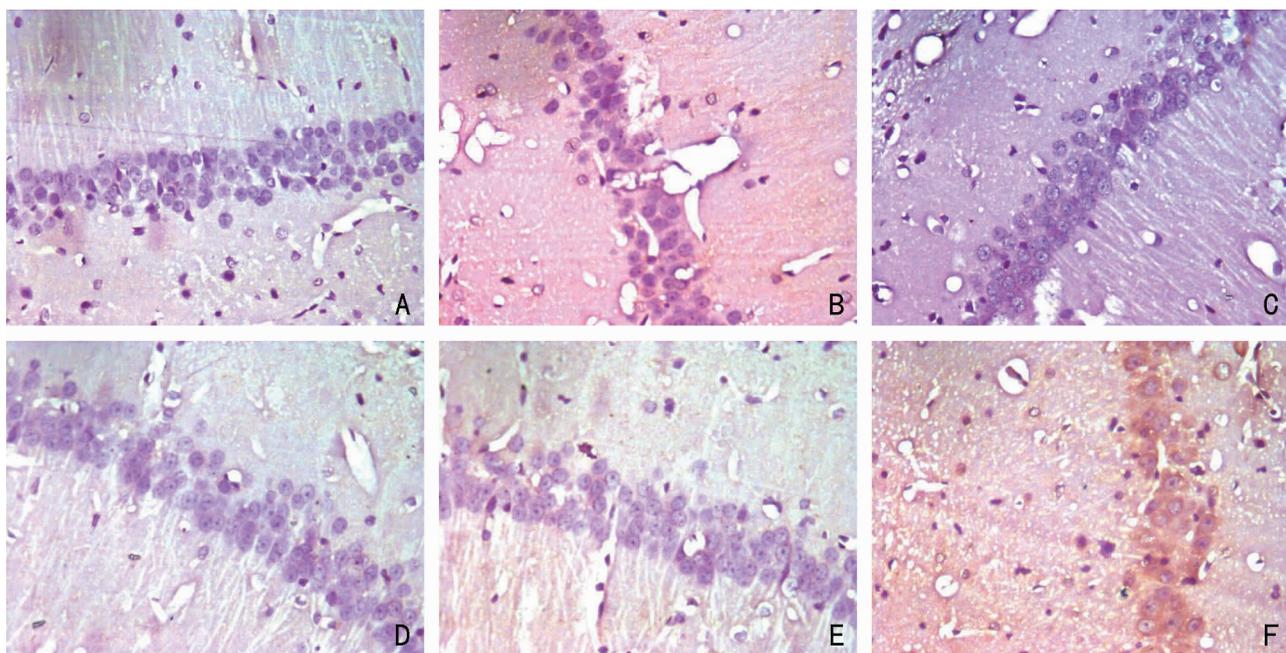


图 2 免疫组织化学法检测 bcl-2 表达。A: C<sub>1</sub> 组; B: C<sub>2</sub> 组; C: C<sub>3</sub> 组; D: H<sub>1</sub> 组; E: H<sub>2</sub> 组; F: H<sub>3</sub> 组。

Fig. 2 Expression of bcl-2 in hippocampal CA1 region by immunohistochemical analysis. A: Group C<sub>1</sub>; B: Group C<sub>2</sub>; C: Group C<sub>3</sub>; D: Group H<sub>1</sub>; E: Group H<sub>2</sub>; F: Group H<sub>3</sub>.

2.6 TUNEL 分析海马 CA1 区细胞的凋亡

TUNEL 阳性表达为细胞核成棕黄色, C<sub>1</sub> 组、C<sub>2</sub> 组、C<sub>3</sub> 组和 H<sub>1</sub> 组、H<sub>2</sub> 组海马 CA1 区偶见散在阳性细胞, H<sub>3</sub> 组阳性细胞略增多, AI 依次为

(2.6 ± 2.5)%, (2.9 ± 2.0)%, (5.4 ± 2.2)%, (3.1 ± 2.2)%, (5.1 ± 3.0)%, (16.3 ± 5.7)%。H<sub>3</sub> 组与 C<sub>3</sub> 组、H<sub>1</sub> 组、H<sub>2</sub> 组比较差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ) (图 4)。

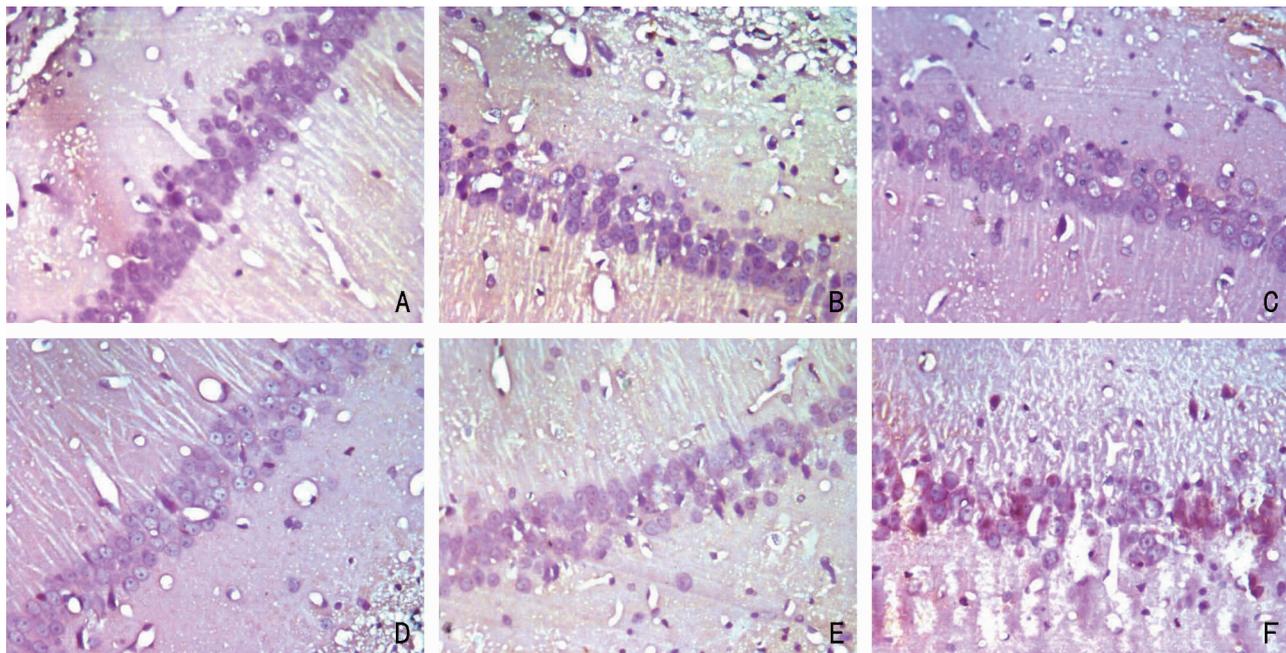


图 3 免疫组织化学法检测 caspase-3 表达。A: C<sub>1</sub> 组; B: C<sub>2</sub> 组; C: C<sub>3</sub> 组; D: H<sub>1</sub> 组; E: H<sub>2</sub> 组; F: H<sub>3</sub> 组。

Fig. 3 Expression of caspase-3 in hippocampal CA1 region by immunohistochemical analysis. A: Group C<sub>1</sub>; B: Group C<sub>2</sub>; C: Group C<sub>3</sub>; D: Group H<sub>1</sub>; E: Group H<sub>2</sub>; F: Group H<sub>3</sub>.

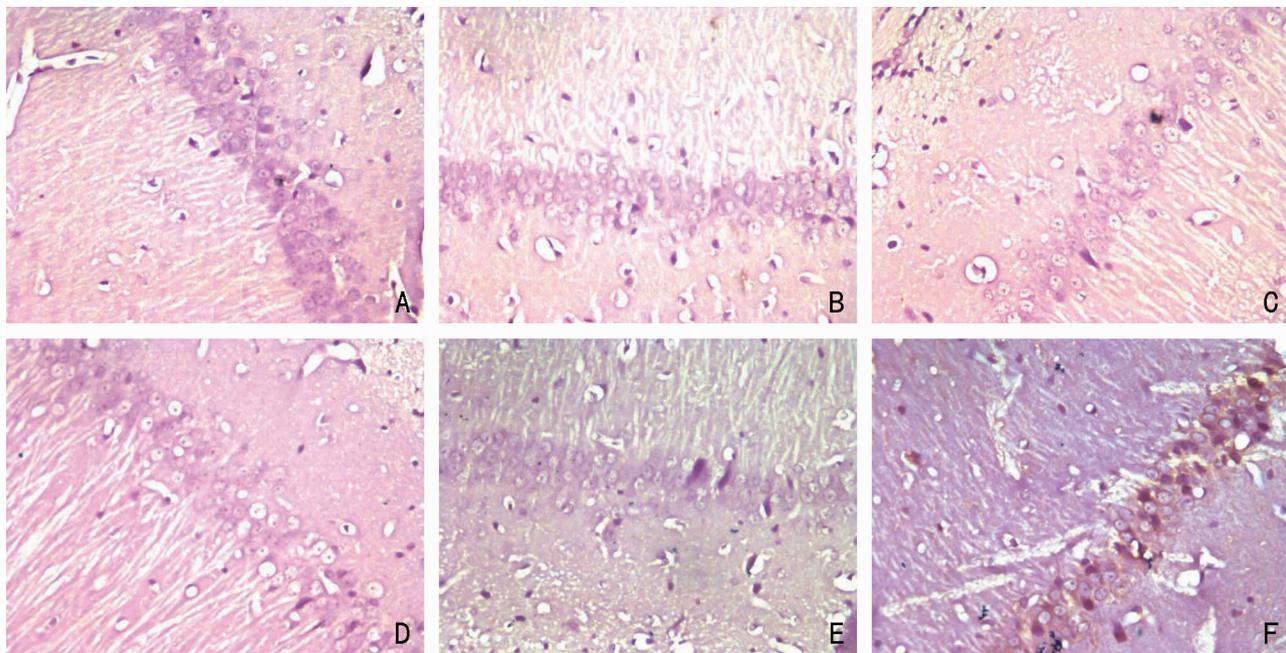


图 4 TUNEL 分析法检测海马 CA1 区凋亡细胞。A: C<sub>1</sub> 组; B: C<sub>2</sub> 组; C: C<sub>3</sub> 组; D: H<sub>1</sub> 组; E: H<sub>2</sub> 组; F: H<sub>3</sub> 组。

Fig. 4 Apoptosis cells in hippocampal CA1 region by TUNEL staining. A: Group C<sub>1</sub>; B: Group C<sub>2</sub>; C: Group C<sub>3</sub>; D: Group H<sub>1</sub>; E: Group H<sub>2</sub>; F: Group H<sub>3</sub>.

### 3 讨 论

硝普钠能直接扩张脑血管,用于控制性降压期间脑血流量不一定减少甚至增多时维持脑血流量<sup>[1]</sup>,临床上艾司洛尔常与之配伍合用,以抑制硝普钠心跳反射性增快等缺点<sup>[6]</sup>。降压期间伴发大量失血后,失血到一定程度时脑血流量可能不能维持,并可能造成脑损伤。近年来证实亚致死性脑缺血与细胞凋亡发生有关<sup>[7]</sup>,而海马 CA1 区神经元对缺血选择性敏感,本研究选择该区为观察对象。

细胞凋亡由许多因素激发,由一系列基因控制(如即早基因<sup>[8]</sup>、caspase 家族<sup>[9]</sup>、bcl-2 家族<sup>[10]</sup>等),并有新合成的蛋白质参与,为细胞主动死亡过程。Bcl-2 即 B 细胞淋巴瘤/白血病-2 基因,是脑缺血/再灌注细胞凋亡调控基因的基本成员,可抑制多种因素介导的细胞凋亡,保护神经元<sup>[10]</sup>。大量脑缺血再灌注损伤的研究表明,bcl-2 的高表达可减少细胞凋亡的发生<sup>[11]</sup>。Caspase-3 即半胱氨酰天冬氨酸特异性蛋白酶-3,是多种凋亡途径的必经之路,是 caspase 级联反应的核心执行者。在沙土鼠双侧颈总动脉结扎 10 min 造成全脑缺血模型,caspase-3 的酶活性增高<sup>[12]</sup>。SD 大鼠单侧颈总动脉结扎同时放血维持全身 MAP 40 mmHg,维持此过程 45 min,再灌注 24 h 时芬太尼 N<sub>2</sub>O 麻醉组海马组织观测到活化的 caspase-3 染色阳性细胞<sup>[7]</sup>。

本实验 H<sub>3</sub> 组在再灌注后 24 h 时检测到大量 bcl-2 表达,提示控制性降压维持 MAP 50 ~ 55 mmHg 后失血 30% 可诱导海马 CA1 区在再灌注早期 bcl-2 蛋白表达,以保护该区缺血神经元。但同时检测到 caspase-3 的表达及 TUNEL 染色阳性细胞,说明 H<sub>3</sub> 组存在脑灌注不足,有缺血性损害发生。Bcl-2 高表达并未能单一逆转细胞凋亡的命运,可能与脑缺血的程度有关。有研究者将 C57Black/Crj6 鼠前脑缺血 3, 6, 8 min, 均再灌注 48 h 发现,bcl-2 蛋白表达在缺血 3 min 组较对照组没有上升,而在缺血 6 min 组大为增多,在缺血 8 min 组也有增多,但此时已检测到 TUNEL 表达阳性细胞<sup>[13]</sup>。

本实验 H<sub>1</sub> 组和 H<sub>2</sub> 组控制性降压并发 10% 和 20% 失血,未诱发海马 CA1 区细胞凋亡的发

生, Sperry 等<sup>[14]</sup> 也曾报导用硝酸钠将大鼠 MAP 降至 50 mmHg 维持 10 min 后再放血 20%, 继续维持降压药物泵速不变,检测到其脑血流量并无减少。H<sub>3</sub> 组海马 CA1 区细胞凋亡的发生证实有脑缺血反应。同为失血 30%, 在 C<sub>3</sub> 组平均 MAP 水平仍能维持脑血液灌注,H<sub>3</sub> 组平均 MAP 低于 C<sub>3</sub> 组。当血压进一步降低时,脑血管自身调节减弱,硝普钠的这种较好保持血流量的作用已不能起作用,脑血流量随 MAP 的降低呈显著线性减少。另外,H<sub>3</sub> 组 BE 值与 C<sub>3</sub> 组比较差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),说明此时发生了能量代谢紊乱。Michenfelder 等<sup>[15]</sup> 在狗的控制性降压研究中发现,当脑灌注压低到一定程度时,低血压对脑能量代谢的影响与所用的降压药物或方法已没有关系。故 H<sub>3</sub> 组维持了 60 min 的低灌注状态使脑组织发生了脑损伤,诱导海马 CA1 区细胞凋亡的发生。

综上,硝普钠复合艾司洛尔控制性降压下大鼠失血 30% 可诱导海马 CA1 区细胞凋亡的发生,即降压下大脑不能耐受 30% 的失血,从脑保护角度考虑,失血 30% 可能为控制性降压下失血的阈值。同时,控制性降压和失血双重作用下所致 H<sub>3</sub> 组 MAP 33 mmHg 可能为脑损伤的危险信号。临床实施控制性降压时应密切监测降压的 MAP 及术中失血量,以避免脑缺血的发生。

#### 参考文献:

- [1] Pinaud M, Souron R, Lelausque J N, et al. Cerebral blood flow and cerebral oxygen consumption during nitroprusside-induced hypotension to less than 50 mmHg [J]. *Anesthesiology*, 1989, 70(2): 255-260.
- [2] Matsui T, Mori T, Tateishi N, et al. Astrocytic activation and delayed infarct expansion after permanent focal ischemia in rats [J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2002, 22(6): 711-722.
- [3] Lloyd-Thomas A R, Cole P V, Prior P F, et al. Isoflurane prevents EEG depression during trimetaphan-induced hypotension in man [J]. *Br J Anaesth*, 1990, 65(3): 313-318.
- [4] Kimme P, Ledin T, Sjöberg F, et al. Dose effect of sevoflurane and isoflurane anesthetics on cortical blood flow during controlled hypotension in the pig [J]. *Acta Anaesthesiol Scand*, 2007, 51(5): 607-613.
- [5] Yale C E, Torhorst J B. Critical bleeding and plasma volume of adult germfree rats [J]. *Lab Anim Sci*, 1972, 22(4):

- 497-504.
- [ 6 ] Edmondson R, Del Valle O, Shah N, et al. Esmolol for potentiation of nitroprusside-induced hypotension; impact on the cardiovascular, adrenergic, and renin-angiotensin systems in man [ J ]. *Anesth Analg*, 1989, 69 ( 2 ): 202-206.
- [ 7 ] Pape M, Engelhard K, Eberspächer E, et al. The long-term effect of sevoflurane on neuronal cell damage and expression of apoptotic factors after cerebral ischemia and reperfusion in rats [ J ]. *Anesth Analg*, 2006, 103 ( 1 ): 173-179.
- [ 8 ] Jang M H, Shin M C, Lee T H, et al. Acupuncture suppresses ischemia-induced increase in c-Fos expression and apoptosis in the hippocampal CA1 region in gerbils [ J ]. *Neurosci Lett*, 2003, 347 ( 1 ): 5-8.
- [ 9 ] Shimizu H, Ohgoh M, Ikeda M, et al. Caspase-3-like protease activity-independent apoptosis at the onset of neuronal cell death in the gerbil hippocampus after global ischemia [ J ]. *Biol Pharm Bull*, 2007, 30 ( 10 ): 1950-1953.
- [ 10 ] Linnik M D, Zahos P, Geschwind M D, et al. Expression of bcl-2 from a defective herpes simplex virus-1 vector limits neuronal death in focal cerebral ischemia [ J ]. *Stroke*, 1995, 26 ( 9 ): 1670-1675.
- [ 11 ] Cao Y J, Shibata T, Rainov N G, et al. Liposome-mediated transfer of the bcl-2 gene results in neuroprotection after in vivo transient focal cerebral ischemia in an animal model [ J ]. *Gene Ther*, 2002, 9 ( 6 ): 415-419.
- [ 12 ] Cho S, Liu D, Gonzales C, et al. Temporal assessment of caspase activation in experimental models of focal and global ischemia [ J ]. *Brain Res*, 2003, 982 ( 2 ): 146-155.
- [ 13 ] Wu C, Fujihara H, Yao J, et al. Different expression patterns of Bcl-2, Bcl-xl, and Bax proteins after sublethal forebrain ischemia in C57Black /Crj6 mouse striatum [ J ]. *Stroke*, 2003, 34 ( 7 ): 1803-1808.
- [ 14 ] Sperry R J, Monk C R, Durieux M E, et al. The influence of hemorrhage on organ perfusion during deliberate hypotension in the rats [ J ]. *Anesthesiology*, 1992, 77 ( 6 ): 1171-1177.
- [ 15 ] Michenfelder J D, Theye R A. Canine systemic and cerebral effects of hypotension induced by hemorrhage, trimethaphan, halothane, or nitroprusside [ J ]. *Anesthesiology*, 1977, 46 ( 3 ): 188-195.

( 本文编辑 傅希文 )

## 关于万方数据为本刊免费注册 DOI 的说明

北京万方数据股份有限公司是国际 DOI 基金会 (IDF) 正式授权的中文 DOI 注册机构,负责开展各种中文数字资源的 DOI 注册及服务。为了促进中国期刊的全球标准化推广工作,促进中文学术信息的网络传播与利用、提高中国期刊的全球影响力,我刊决定于 2010 年 1 月 1 日起,与万方数据公司签约,由万方数据为我刊免费提供论文 DOI 代理注册和加工 DOI 元数据服务。

《中南大学学报(医学版)》编辑部

2010 年 1 月